

Der HPLC-Tipp im März

Wie kann ich einen Peak „schöner“ (schmaler) machen?

von Dr. Stavros Kromidas, Blieskastel

Der Fall

Ein/mehrere Peak(s) ist/sind klein und breit. Wie kann ich schnell die Peakform verbessern? Das Thema haben wir an dieser Stelle in ähnlicher Form bereits behandelt. Die Frage wird jedoch von Anwender*innen recht häufig gestellt, ich kann gerne noch einmal darauf eingehen.

Die Lösung

Nachfolgende Vorschläge zielen auf typische RP-Systeme:

1. *Schnelle Maßnahmen, Zeitbedarf ca. 15-20 min*
 - Probelösung mit Wasser und/oder mit Kochsalz/Puffer versetzen und – wenn erlaubt – mehr injizieren, ansonsten Injektionsvolumen konstant lassen
 - Säule umdrehen – nicht bei UHPLC-Säulen und/oder auch nicht beim Gradienten
 - Kürzere/dünnere Kapillare zwischen Säule und Detektor einbauen, unnötige Verbindungsstücke vor dem Detektor entfernen
 - Eine Zeitkonstante von 50 ms, eine Spaltbreite von 16 nm, eine Datenrateaufnahme von 10-20 Hz und evtl. eine andere Wellenlänge wählen (beim letzterer Änderung wird der Peak eher größer denn schmaler)
2. *Falls Sie Freiheiten genießen: Relativ einfache Veränderungen der Methode, Zeitbedarf ca. 1-2 Stunden*
 - Eine dünnere, z. B. eine 3 oder 2,1 mm-Säule verwenden
 - Kleinere Teilchen oder Core Shell-Material einsetzen
 - Mit mehr % B beim Gradienten starten, Gradienten steiler gestalten
 - Temperatur um 10-15 °C erhöhen
 - Δ pH, Δ Modifier bzw. Δ Konzentration des Modifiers im Eluenten und/oder in der Probelösung

Folgende Kombination ist vom zeitlichen Aufwand her vertretbar und hat sich häufig bewährt: Probelösung mit Wasser verdünnen, Temperatur um 10-15 °C erhöhen, mit 10-20 % mehr B starten und Steilheit um 10-20 % erhöhen.

3. *Hardware-Änderung*
 - Kleinere Zelle, noch besser, eine Zelle mit einem kleineren Volumen und einem gleichzeitig möglichst langem Lichtweg kaufen (z. B. 85 mm). Sollten Sie über etwas Geld verfügen, fragen Sie Ihren Geräte-Lieferanten nach alternativen Zellen in seinem Programm, in den letzten Jahren ist hier einiges passiert. Dass empfindlichere Detektoren definitiv einiges „bringen“

können ist klar, aber hier sprächen wir von einer Investition. Apropos Detektor: Ich vermute, dass auch die letzten Cd- und Hg-Festwellenlängen-Detektoren aus den dunkelsten Ecken von tiefen Uni-Kellern verbannt worden sind... Ich persönlich traue sie immer noch nach: Deren Empfindlichkeit im unteren Wellenlängenbereich war und wäre heute immer noch im Vergleich zu den Deuterium-Detektoren um ca. Faktor 1.000 grösser.

Das Fazit

Peakform verbessern geht oft schneller als man denkt. Es lohnt sich, die weiter oben erwähnten einfachen Kniffe auszuprobieren. Mit etwas Geld in der Hand gibt es natürlich erweiterte Möglichkeiten.